دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های حفاظت آب و خاک
جلد بیست و پنجم، شماره ششم، ۱۳۹۷
http://jwsc.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwsc.2018.14918.3000

تأثیر مدت زمان تماس بر صفات رشد کرم خاکی گونه *Eisenia foetida* تغذیه‌شده با کود دامی در خاک آلوده

قاسم رحیمی[1]* و فیروزه نوروزی‌گلدره[2]

[1]دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا، [2]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۳

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین در جهان، به‌خصوص در کشورهایی که نیاز به خاک برای تولید غذا دارند تبدیل به یک نگرانی جدی شده است. در زمینه ارزیابی خطرات زیست‌محیطی، کرم‌های خاکی جزء مهمی از خاک و از نظر اکولوژیکی به‌عنوان یک شاخص زیستی مهم برای سلامت و کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند. کرم‌های خاکی بخشی از زنجیره غذایی و چرخه تجزیه در خاک هستند که ویژگی‌های رشد آن‌ها به‌طور نامطلوبی تحت‌تأثیر آلودگی‌های خاک قرار می‌گیرد. با توجه به حساسیت کرم‌های خاکی به آلودگی، از آن‌ها می‌توان به‌عنوان شاخص زیستی خاک‌های آلوده استفاده نمود. به‌منظور بررسی تأثیر مدت زمان تماس و محل نمونه‌برداری خاک بر صفات رشد کرم‌های خاکی در خاک‌های آلوده پژوهش حاضر اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: این پژوهش روی یک خاک آلوده که از معدن آهنگران در ۲۶ کیلومتری شهرستان ملایر، به‌سمت شهرستان اراک در استان همدان و زمین‌های اطراف آن نمونه‌برداری‌شده بود، انجام شد. یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و از کود دامی به‌عنوان تغذیه برای کرم خاکی استفاده شد. در این آزمایش ۱۲ عدد کرم خاکی با میانگین وزن ۰/۳-۰/۶ میلی‌گرم برای هر نمونه خاک انتخاب شدند و در طول اجرای آزمایش هیچ نوع غذایی به ظرف‌ها اضافه نشد. سپس کرم‌ها در هفت بازه زمانی مختلف شامل ۳، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۲ و ۴۲ روز در معرض خاک آلوده به فلز سرب با غلظت ۴۰۰-۸۱۹۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کادمیوم با غلظت ۱/۱۵۹-۶/۶۵۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند و زنده‌مانی، وزن، تولید کوکون و تولیدمثل آن‌ها به روش شمارش با دست در واحد وزن بستر مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که خاک‌های آلوده به سرب و کادمیوم به‌طور معنی‌داری می‌تواند پارامترهای رشد کرم‌های خاکی گونه *Eisenia foetida* را تحت‌تأثیر قرار دهد. تعداد کرم‌های خاکی با گذشت زمان کاهش یافت به‌طوری‌که در روزهای ۳ و ۷ بیش‌ترین درصد کرم خاکی (۹۴/۰۵۲ درصد) و در روز ۴۲ کم‌ترین درصد

---

* مسئول مکاتبه: ghasemr@gmil.com

(۷۳/۸۰۵ درصد) کرم‌های خاکی با تفاوت معنی‌داری دیده شد که می‌تواند به‌دلیل تمام شدن منبع غذا برای کرم‌های خاکی با گذر زمان باشد. بیش‌ترین میزان کوکون تولید شده در روز ۲۸ و ۳۲ آزمایش با اختلاف معنی‌دار بین روزهای دیگر دیده شد. کم‌ترین میزان کوکون تولید شده با اختلاف معنی‌دار در روز ٤۲ دیده شد که احتمالاً به‌دلیل کامل شدن سیکل کوکون‌ها و تبدیل کوکون به لاورها باشد. با وجود بالا بودن غلظت عناصر سرب و کادمیوم در نقطه S_3 بیش‌ترین درصد زنده‌مانی، تعداد کوکون و لارو (تولیدمثل) کرم‌های خاکی دیده شد که دلیل آن می‌تواند مقاومت بالای کرم‌های خاکی به اثرات سمی کادمیوم و سرب به‌دلیل سم‌زدایی آن توسط پروتئین‌های متالوتیونین در کانال‌های غذایی پشتی باشد.

نتیجه‌گیری: معمولاً هرچه کرم‌های خاکی مدت زمان طولانی‌تری در تماس با این عنصر قرار گرفتند، کاهش جمعیت، وزن و تولید کوکون آن‌ها شدیدتر بود. اما زمانی که کرم‌های خاکی در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مانند سرب و کادمیوم با کود دامی تغذیه شوند، کاهش جمعیت، وزن و تعداد کوکون تولیدی، از سرعت کم‌تری برخوردار گردید به‌طوری‌که افزایش تعداد کوکون و تولیدمثل در پایان دوره آزمایش رخ داد. با توجه به حساسیت صفات رشدی کرم‌های خاکی می‌توان از آن‌ها به‌عنوان شاخص آلودگی خاک استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی خاک، زنده‌مانی، فلزات سرب و کادمیوم، کرم خاکی *Eisenia foetida*، کوکون

مقدمه

آلودگی خاک‌ها به فلزات سنگین در جهان، به‌خصوص در کشورهایی که نیاز به خاک برای تولید غذا دارند تبدیل به یک نگرانی جدی شده است. فلزات سنگین مانند کادمیوم، سرب، مس، روی، نیکل به‌دلیل فعالیت‌های بشری، پیشرفت صنایع، عدم استفاده صحیح از کودهای شیمیایی و دامی در زمین‌های کشاورزی، آبیاری با پساب برای کشاورزی و معدن‌کاری باعث تجمع در خاک شده است. تجمع فلزات سنگین در خاک می‌تواند بر سلامت انسان‌ها و موجودات زنده اثر بگذارد (١٤ و ١٥).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که در چهار قرن گذشته در زمینه ارزیابی خطرات زیست‌محیطی، کرم‌های خاکی جزء مهمی از خاک، و از لحاظ اکولوژیکی به‌عنوان یک بیواندیکاتور[1] (شاخص زیستی) مهم برای سلامت و کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند (۹، ۱۹ و ٣٤). این موجودات می‌توانند غلظت بالایی از فلزات سنگین را در بدن خود تجمع دهند (١٦). آن‌ها به‌طور طبیعی در تماس با خاک قرار دارند به همین دلیل در سال‌های اخیر از این جانداران برای تصفیه خاک جهت حذف حشره‌کش‌های مورد استفاده در کشاورزی، فلزات سنگین و آلاینده‌های نفتی استفاده شده است (۳۲).

کرم‌های خاکی از اجزای اصلی زیتوده جانوری خاک بوده، بنابراین یکی از مهم‌ترین منابع غذایی برای دیگر موجودات بالاتر در هرم غذایی هستند (٦). با توجه به تجمع مواد سمی مانند فلزات و برخی حشره‌کش‌ها در بدن کرم خاکی، موجوداتی که از آن‌ها تغذیه می‌کنند مستقیماً تحت‌تأثیر قرار می‌گیرند (۲۷). کرم‌های خاکی در تماس مستقیم با اجزاء خاک و به‌ویژه آب خاک بوده، بنابراین در تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک نقش با ارزشی دارند (۵ و ٢٤). با توجه به دلایل فوق و همچنین در دسترس بودن آن‌ها، حمل و نقل راحت، کاربرد در بررسی‌های مسمویت و تکثیر و پرورش مناسب درآزمایشگاه، تقاضا برای استفاده از این بی‌مهرگان خاکزی در ارزیابی مخاطرات اکولوژیکی در اکوسیستم‌های

---

[1] 1- Bioindicators

خشکی رو به افزایش است. بنابراین سازمان همکاری اقتصادی و توسعه اروپا (۱۹۸٤) و آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (۱۹۹٦) کرم‌های خاکی گونه ایزنیا فتیدا را به‌عنوان گونه مناسب در مطالعات آزمایشگاهی معرفی نموده‌اند (۳، ۷، ۲۲ و ۲۷).

در موجوداتی مثل کرم‌های خاکی، تجمع زیستی یک فلز در بدن موجود به‌عنوان شاخص سمیت شناخته می شود، به‌ویژه برای فلزاتی که در فرآیند متابولیسم قرار نگرفته و بدون تغییر به منطقه هدف می‌رسند (۱۷). در کرم‌های خاکی بر خلاف سایر بی‌مهرگان خاکزی، مواد شیمیایی یا سموم از دو راه جذب بدن می‌شوند: ۱- جذب پوستی، ۲- جذب بلعی. چون کرم‌های خاکی در تماس مستقیم با آب خاک بوده و دیواره بدن آن‌ها نفوذپذیری زیادی دارد برای تصفیه و تبادل گازهای تنفسی، مقدار قابل‌توجهی از آب و دیگر مولکول‌ها از دیواره بدن کرم مبادله می‌شوند (۱۸) و مواد شیمیایی حل شده در محیط مانند یون‌های فلزی آزاد، می‌توانند از این طریق وارد بدن کرم خاکی شوند در روش دوم، آلاینده‌های فلزی، جذب خاک و اجزای آلی شده که به‌عنوان غذای کرم خاکی مورد استفاده قرار می‌گیرند یا وارد آب خاک شده که مستقیماً بلعیده می‌شوند. از نظر تئوری در جذب پوستی باید غلظت مواد شیمیایی در بافت‌ها، با غلظت آن ماده در آب نسبت مستقیم داشته باشد (۱).

فلزات کادمیوم و سرب از جمله آلاینده‌هایی است که هنگام رهاسازی فاضلاب‌ها در محیط‌زیست و یا اصلاح خاک با لجن‌ها باید به آن‌ها توجه کرد. این فلزات در اندام‌های بی‌مهرگان خاکزی مانند ایزوپودها و کرم‌های خاکی می‌تواند تجمع یابد که در نهایت کادمیوم در دسترس موجودات عالی‌تر که از آن گروه تغذیه می‌کنند قرار می‌گیرد (۱۲). غلظت‌های بالای کادمیوم و سرب در خاک باعث کاهش کارآیی متابولیسم ریزجانداران خاکزی خاکزی می‌شود (۲۸). به‌عنوان مثال این فلزات می‌توانند بر تراکم جمعیت، رشد، بلوغ جنسی و تولیدمثل کرم خاکی اثر بگذارد (۲٤، ۲۵ و ۳۳). بنابر گزارش هما و همکاران (۲۰۰۳) کادمیوم می‌تواند باعث کاهش ایمنی بدن شود (۱۱). کادمیوم در بدن کرم خاکی در گرانول‌هایی در بافت کلراگنوس (۱۷) و همچنین در نفریدی‌ها (۲۳) تجمع می‌یابد. مطالعه اسپورگئون و هوپکین (۱۹۹۵) نشان داد که در خاکی که به‌صورت مصنوعی آلوده شده بود، کادمیوم، مس، سرب و روی باعث افزایش تلفات، کاهش رشد و تولید کرم خاکی گونه ایزنیا فتیدا شده است (۳٦). طی گزارشی اسپورگئون و همکاران (۱۹۹٤) اعلام کردند که کادمیوم تا غلظت ۳۰۰ میکروگرم در گرم سوبسترا، اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی کرم خاکی گونه ایزنیا فتیدا نداشت (۳۷). بنابر مطالعات صورت گرفته (۲۰۱۵) مشخص شد ارتباط معنی‌داری بین زنده‌مانی، وزن و تولید کوکون با سطح آلودگی فلزات سنگین و زمان تماس مشاهده شد (۸ و ۱۳).

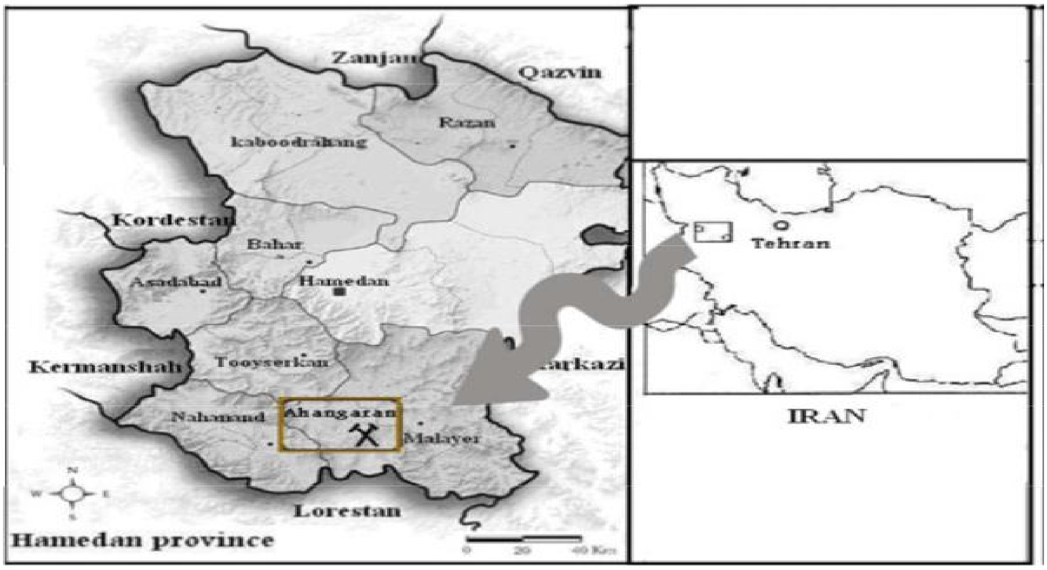
بررسی اثرات آلاینده‌ها با روش اندازه‌گیری غلظت آن‌ها در محیط، به‌دلیل برهم‌کنش‌های موجود علاوه بر وقت‌گیر بودن، بیانگر پاسخ موجودات زنده به آلاینده نمی‌تواند باشد. با توجه به پاسخ سریع موجودات زنده به تغییرات محل زندگی، دسترس بودن کرم‌های خاکی، حمل و نقل راحت، کاربرد در بررسی‌های مسمویت، تکثیر و پرورش مناسب در آزمایشگاه، تقاضا برای استفاده از این بی‌مهرگان خاکزی در ارزیابی مخاطرات اکولوژیکی در اکوسیستم‌های خشکی رو به افزایش است. با توجه به این‌که یکی از مهم‌ترین مشکلات زیست‌محیطی در سراسر دنیا آلودگی خاک‌های مناطق صنعتی و معدنی به‌ویژه زمین‌های کشاورزی به فلزات سنگین مانند سرب، کادمیوم، جیوه، آرسنیک و غیره است و استفاده از کرم خاکی یک روش زیستی مناسبی برای و تعیین درجه آلودگی خاک به فلزات است (۲۹). بنابراین هدف از این

پژوهش بررسی میزان حساسیت کرم خاکی ایزینا فتیدا در نقاط نمونه‌برداری خاک آلوده به فلزات سنگین سرب و کادمیوم بود.

مواد و روش‌ها

محل نمونه‌برداری خاک: این پژوهش روی یک خاک آلوده طبیعی که از معدن سرب و روی آهنگران و زمین‌های اطراف آن نمونه‌برداری شده بود، انجام شد. معدن سرمک آهنگران در ٢٦ کیلومتری شهرستان ملایر، به‌سمت شهرستان اراک در استان همدان، به‌ترتیب با طول و عرض جغرافیایی ٤٨° ٥٩′ ٤٤″ و ٣٤° ١٠′ ٢٠″ واقع شده است (شکل ١)، آب و هوای این منطقه معتدل مدیترانه‌ای است.

نمونه‌برداری خاک: ٦ نمونه مرکب خاک از عمق ٠-١٥ سانتی‌متری توسط بیلچه در فواصل متفاوت اطراف معدن به‌صورت شعاعی و در جهت شیب برداشت شد، برای مقایسه میزان و شدت آلودگی، یک نمونه خاک (نمونه شاهد، S_7) از مناطق غیرآلوده (اطراف دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا) نیز جمع‌آوری شد. فاصله نقطه S_1 در معدن و نقطه S_6 (طول و عرض جغرافیایی ٤٥° ٥٥′ ٢٧/٩٠٨″ و ٣٤° ٤′ ١٨/٩٩″)، در دورترین فاصله از معدن (یک کیلومتری معدن سرمک آهنگران در نزدیکی جاده) و نقاط S_2 (طول و عرض جغرافیایی ٤٨° ٥٩′ ٥٠/٩٥″ و ٣٤° ١٠′ ٤٠/٦٨″)، S_3 (طول و عرض جغرافیایی ٤٨° ٥٩′ ٤١/٧٠٦″ و ٣٤° ١٠′ ٣٣/٩٩″)، S_4 (طول و عرض جغرافیایی ٤٥° ٥٥′ ٢٩/٤٣″ و ٣٤° ٥′ ٧/١٠٥″) و S_5 (طول و عرض جغرافیایی ٤٥° ٥٩′ ٢٦/٤٢″ و ٣٤° ١٠′ ١٣/٠″) مابین این دو نقطه قرار گرفتند. نمونه‌های خاک در داخل کیسه پلی‌اتیلن ریخته شدند و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. خاک‌ها هواخشک و از الک (٢>mm) عبور داده شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها مانند هدایت الکتریکی (EC) و واکنش خاک (pH) با نسبت ١:٥ خاک به آب (٢٧، ٣٠ و ٣٨)، کربن آلی خاک با روش والکلی-بلک (٣٩)، بافت خاک با روش هیدرومتری (٤) و ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) به روش استات آمونیوم (٣١) مورد بررسی قرار گرفت (جدول ١).


Zanjan
Qazvin
Razan
kaboodrahang
Kordestan
Bahar
Asadabad
Hamedan
Kermanshah
Tooyserkan
Markazi
Nahavand
Ahangaran
Malayer
Lorestan
Hamedan province
0 20 40 Km
Tehran
IRAN

شکل ١- موقعیت منطقه مورد مطالعه.

Figure 1. Location of the studied area.

اندازه‌گیری غلظت کل فلزات سنگین در خاک به روش اسپوزیتو و همکاران (۱۹۸۲) با هضم اسیدی خاک انجام شد (۳۵). در این روش مقدار۲ گرم از هر نمونه را داخل ارلن ریخته شد و به هر یک از نمونه‌ها ۱۵ میلی‌لیتر اسیدنیتریک ٤ نرمال اضافه شد و به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار گرفت و پس از گذشت زمان یاد شده پالایش شد. غلظت فلزات سنگین سرب و کادمیوم توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی مدل Varian ۲۲۰ اندازه‌گیری شد

آماده‌سازی نمونه‌ها: سیصد گرم از خاک هواخشک شده مربوط به هر نقطه نمونه‌برداری در ظرف پلاستیکی به ابعاد (۱۷×۱۳×۱۸ سانتی‌متر) قرار داده شد. ۱۵۰ گرم کود دامی (کود گاوی) به‌منظور تغذیه کرم‌های خاکی به خاک اضافه شد. به‌منظور هوادهی کرم‌های خاکی، چهار طرف ظرف‌ها با حفره کوچک سوراخ شد و برای جلوگیری از خروج کرم‌ها از داخل ظرف، از توری‌های ریزی استفاده شد. رطوبت نمونه‌ها توسط آب مقطر به رطوبت مورد نیاز برای زنده ماندن کرم خاکی (حد ظرفیت زراعی خاک) رسانده شد. سپس نمونه‌های مورد آزمایش به‌مدت سه روز به‌منظور ایجاد تعادل بین رطوبت خاک و ماده آلی مورد استفاده در داخل انکوباتور در دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۲۰).

آماده‌سازی کرم خاکی: کرم‌های خاکی، ایزنیا فتیدا، از شرکت ورمی‌کمپوستینگ که تولیدکننده و عرضه‌کننده کرم ایزنیا فتیدا واقع در استان البرز می‌باشد، تهیه شد. همه کرم‌های خاکی به‌مدت ۲ ماه قبل از آزمایش در یک محیط حاوی کود دامی در رطوبت ٪۷۰ در دمای ۲±۲۱ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در داخل انکوباتور کشت شدند. برای رژیم غذایی کرم‌های خاکی از بقایای گیاهی (پوره هویج) استفاده شد (۲۱).

آزمایش کرم‌های خاکی: سه روز بعد از ایجاد تعادل رطوبت بین نمونه‌های خاک با ماده آلی، دوازده کرم خاکی بالغ برای هر نمونه به‌صورت تصادفی انتخاب و با آب مقطر شسته شدند، پس از خشک کردن آن‌ها، وزن شدند. کرم‌های خاکی با میانگین وزن ۰/٦-۰/۳ گرم انتخاب شدند. به‌منظور خارج کردن محتویات روده کرم‌های خاکی از ذرات خاک، کرم‌های خاکی در پتری‌دیش‌های شیشه‌ای (۷ کرم در هر ظرف) شامل کاغذ واتمن با چند قطره آب مقطر برای حفظ رطوبت، در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸ ساعت نگه داشته شدند. برای جلوگیری از مدفوع‌خواری کاغذ واتمن هر ۱۲ ساعت عوض می‌شد (۲). پس از تخلیه روده، ۱۲ عدد کرم خاکی به هر نمونه خاک (نقاط نمونه‌برداری) مخلوط شده با کود دامی اضافه شدند. آزمایش در دمای ۲±۲۱ با دوره نوری ١٦: ۸ ساعت تاریکی و روشنایی انجام شد و در طول اجرای آزمایش هیچ نوع غذایی به ظرف‌ها اضافه نشد. سپس در طی مراحل زمانی ۳، ۷، ١٤، ۲۱، ۲۸، ۳۲ و ٤۲ روز، میزان تولیدمثل، تعداد پیله، وزن بدن و درصد زنده ماندن کرم‌های خاکی (زنده) به روش شمارش با دست در واحد وزن بستر (٤۵۰ گرم شامل ۳۰۰ گرم خاک و ۱۵۰ گرم کود دامی) تعیین شد (۲۱).

تجزیه‌های آماری: تجزیه واریانس داده‌ها (Anova) به روش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS (۹.۱) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ و ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه: نتایج تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری‌شده از نقاط مختلف (جدول ۱) نشان می‌دهد که مقدار pH، EC و CEC در نقاط نمونه‌برداری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود.

با توجه به جدول ۲، pH خاک‌های مناطق اطراف معدن بین ۸/۵۰-۸/۰۹ و pH منطقه غیرآلوده ۷/۸۵ بود. این نشان می‌دهد که pH خاک‌های منطقه مورد مطالعه قلیایی بوده است. مقدار EC خاک‌های مورد مطالعه در محدوده ۰/۱۹۶-۰/۱۰۸ (ds/m) بود که نشان‌دهنده پایین بودن میزان شوری مناطق مورد مطالعه می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری‌شده از نقاط مختلف.

Table 1. Analysis of variance of physical and chemical properties of soil sampled from different locations.

منبع پراکنش Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square			
		واکنش خاک pH	کربن آلی (٪) Organic carbon (%)	هدایت الکتریکی (EC) (ds/m)	CEC Cationic exchange capacity (cmolc/kg)
نقاط نمونه‌برداری Sampling points	6	0.0753^{ns}	0.9630**	0.0030**	50.0203**
خطا Error	13	0.0424	0.0114	0.0003	0.8768
F value	-	1.78	84.04	97.9	57.04

** و ^{ns} به‌ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد.

** and ^{ns} Represents indicate a significant and non- significant difference at 0.01 level.

مقدار کربن آلی مناطق مورد مطالعه در محدوده ۰/۰۳۹-۲/۲۶۲ گزارش شد (جدول ۲). کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار کربن آلی به‌ترتیب در نقاط نمونه‌برداری S_1 (۰/۰۳۹) و S_3 (۲/۲۶۲) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری بین این نقاط با سایر نقاط نمونه‌برداری دیده شد. ظرفیت تبادل کاتیونی خاک‌های مناطق مورد مطالعه بین ۱۷/۳-۳۰/۳ سانتی‌مول بار بر کیلوگرم بود که بیش‌ترین ظرفیت تبادل کاتیونی مربوط به نقاط S_2، S_3، S_4 و S_5 بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها دیده نشد. همچنین خاک‌های مناطق S_2، S_3، S_4، S_5 و S_6 دارای بافت ریز بودند (جدول ۲).

غلظت عناصر سنگین در خاک‌های مورد مطالعه: نتایج جدول تجزیه واریانس فلزات سنگین در نقاط نمونه برداری (جدول ۳) نشان می‌دهد غلظت فلزات سنگین در نقاط نمونه‌برداری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود؛ بنابراین مقایسه میانگین فلزات سنگین در این نقاط مورد بررسی قرار گرفت و در جدول ٤ آورده شد.

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه‌برداری‌شده از نقاط مختلف.

Table 2. Physical and chemical properties of soil sampled from different locations.

	واکنش خاک pH	هدایت الکتریکی (EC) (ds/m)	کربن آلی (٪) Organic carbon (%)	CEC Cationic exchange capacity (cmolc/kg)	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	بافت Texture
S_1	8.23^{ab}	0.195^{a}	0.039^{d}	17.3^{d}	14.8	31.4	53.8	لوم شنی Sandy loam
S_2	8.09^{ab}	0.138^{b}	0.965^{b}	28.7^{a}	30.8	36	33.2	لوم رسی Clay loam
S_3	8.50^{a}	0.196^{a}	2.262^{a}	29.8^{a}	26.8	32	41.2	لوم رسی Clay loam
S_4	8.25^{ab}	0.111^{c}	0.682^{c}	22.9^{c}	36.8	36	27.2	لوم رسی Clay loam
S_5	8.15^{ab}	0.108^{c}	0.564^{c}	30.3^{a}	26.8	29.4	43.8	لوم Loam
S_6	8.23^{ab}	0.108^{c}	0.663^{c}	29.4^{a}	42.2	36.6	21.2	رس Clay
S_7 (نقطه غیرآلوده) Non-contaminated point	7.85^{b}	0.132^{b}	0.575^{c}	26.4^{b}	24.8	20	55.2	لوم رسی شنی Sandy clay loam

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین نقاط نمونه‌برداری با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن ($P<۰/۰۰۰۱$) می‌باشد.

Different letters in each row indicate a significant difference between the sampling points using Duncan's mean comparison analysis ($P<0.0001$).

جدول ۳- تجزیه واریانس غلظت کل فلزات سنگین در نقاط مورد مطالعه.

Table 3. Analysis of variance of the total concentration of heavy metals at the points studied.

منبع پراکنش Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square	
		Pb	Cd
نقاط نمونه‌برداری Sampling points	6	7138596**	10.49**
خطا Error	13	1035105	0.02

** نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد.

** Represents a significant difference at 0.01 level.

بیش‌ترین مقدار میانگین سرب در نقطه $S_{۲}$ یافت شد که برابر ۱۳۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ٤)، که نشان‌دهنده آلوده بودن این نقطه به فلز سرب است و کم‌ترین مقدار میانگین آن در نقطه $S_{۶}$ برابر ٤۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد. اختلاف غیرمعنی‌داری بین نقاط $S_{۱}$، $S_{٤}$، $S_{٥}$، $S_{٦}$ با نقطه غیرآلوده وجود داشت؛ اما مقدار میانگین سرب در نقاط $S_{۳}$، $S_{۲}$ با سایر نقاط معنی‌دار بود (جدول ٤). بالا

بودن مقدار سرب در نقطه غیرآلوده ($S_{۷}$) احتمالاً به‌دلیل وجود مواد مادری غنی از سرب باشد. بیش‌ترین مقدار کادمیوم در نقطه $S_{۳}$ برابر ۶/۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود و کم‌ترین مقدار میانگین آن در نقطه $S_{۶}$ برابر ۱/۸۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (جدول ۴)، که با توجه به جدول ۳ اختلاف معنی‌داری بین نقاط نمونه‌برداری به‌جز نقاط $S_{۵}$ و $S_{۴}$ مشاهده شد.

جدول ٤- میانگین (± اشتباه معیار) غلظت کل فلزات سنگین (میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نقاط مورد مطالعه.

Table 4. Total (mg/kg) concentration of heavy metals averagely (± standard deviation) at the points studied.

	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	S_6	نقطه غیرآلوده Non-contaminated point
Pb	516.25±51.1^c	13250±953^b	8193.75±186^a	618.75±18.8^c	1725±49.9^c	400±73.6^c	1332.19±60.9^b
Cd	3.925±0.1^c	4.985±0.1^b	6.658±0.03^a	2.248±0.01^d	2.368±0.1^d	1.875±0.02^e	1.159±0.01^f

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین نقاط نمونه‌برداری با استفاده از آنالیز مقایسه میانگین دانکن ($P<۰/۰۵$) می‌باشد.

Different letters in each row indicate a significant difference between the sampling points using Duncan's mean comparison analysis ($P<0.05$).

درصد زنده‌مانی کرم خاکی: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد زنده‌مانی کرم‌های خاکی نشان داد که اثر زمان و نقاط نمونه‌برداری بر درصد زنده‌مانی کرم‌های خاکی معنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین درصد زنده‌مانی کرم‌های خاکی در زمان‌های مختلف نشان داد که تعداد کرم‌های خاکی با گذشت زمان کاهش یافت به‌طوری‌که در روزهای ۳ و ۷ بیش‌ترین درصد کرم خاکی (۹۴/۰۵۲) و در روز ٤۲ کم‌ترین درصد (۷۳/۸۰۵) کرم‌های خاکی با تفاوت معنی‌داری دیده شد که می‌تواند به‌دلیل تمام شدن منبع غذا برای کرم‌های خاکی با گذر زمان باشد (شکل ۲). بیش‌ترین درصد کرم‌های خاکی بعد از ٤۲ روز در معرض خاک‌های آلوده قرار گرفتن، ابتدا در نقطه $S_{۷}$ (نقطه غیرآلوده) سپس در نقاط $S_{۶}$، $S_{۵}$ و $S_{۳}$ یافت شد؛ که تفاوت معنی‌داری در تعداد کرم‌های خاکی زنده بین این نقاط دیده نشد. از آن‌جایی‌که نقطه $S_{۳}$ یکی از آلوده‌ترین نقاط به فلزات سرب و کادمیوم بود (جدول ٤) بیش‌ترین تعداد کرم خاکی را به خود اختصاص داد (شکل ۲). میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی در نقطه $S_{۲}$ به‌طور قابل‌توجهی بیش‌تر از سایر نقاط بود اما تفاوت معنی‌داری بین این نقطه با نقطه $S_{۱}$ دیده نشد (شکل ۲، سمت راست). نتایج مطالعه زالتو اسکایت و همکاران (۲۰۱۰)، نشان داد که با افزایش غلظت سرب میزان مرگ و میر کرم‌های خاکی افزایش می‌یابد اما در مورد جذب فلز کادمیوم مرگ و میر قابل‌توجهی رخ نداد (٤۰). تفاوت‌های گزارش شده در مطالعات انجام شده از اثر عناصر، بر پارامترهای رشدی کرم خاکی به‌دلیل زمان‌های تماس متفاوتی است که جانوران در مواجه با آلاینده قرار می‌گیرد (۸).

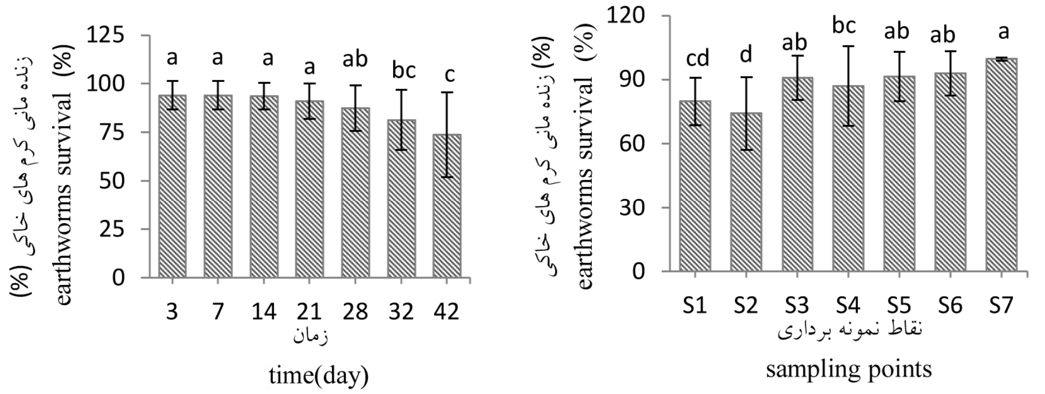
جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر زمان و نقاط نمونه‌برداری بر ویژگی‌های بررسی شده در کرم خاکی.

Table 5. Analysis of variance of the effect of time and sampling points on the characteristics studied in the earthworm.

منبع پراکنش Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square			
		زنده‌مانی (٪) Survival (%)	وزن (گرم) Weight (mg)	فراوانی کوکون تولیدشده Cocoon abundance produced	تولیدمثل Reproduction
نقاط نمونه‌برداری (S) Sampling points	6	1519.14**	0.0219**	610.80**	45.318**
زمان (T) Time	6	1258.84**	0.0977**	2505.34**	1679.31**
T*S	36	110.48^{ns}	0.0014^{ns}	67.86**	40.69**
خطا Error	-	192.41	0.0016	33.89	15.38

** و ^{ns} به‌ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد.

** and ^{ns} Represents indicate a significant and non- significant difference at 0.01 level.

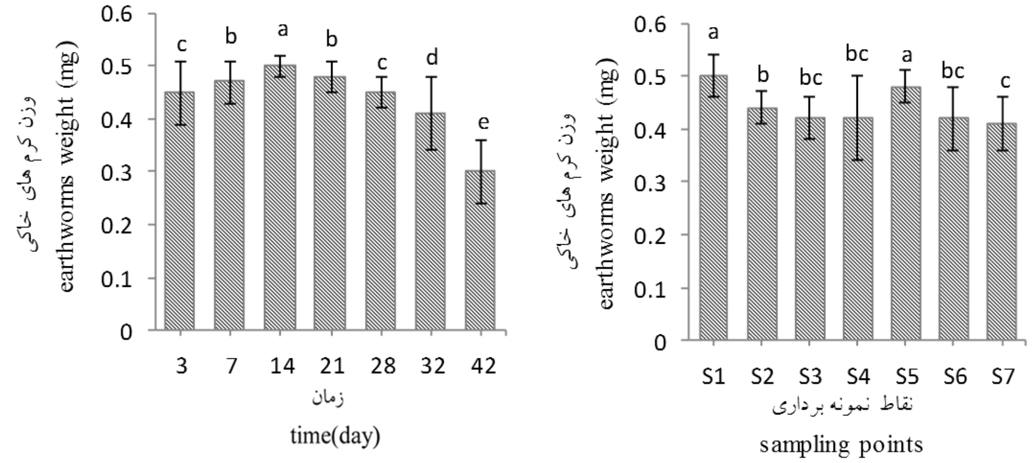


شکل ۲- اثر زمان تماس (شکل سمت چپ) و نقاط نمونه‌برداری (شکل سمت راست) بر درصد زنده‌مانی کرم‌های خاکی در خاک آلوده بعد از ٤۲ روز.

Figure 2. The effect of contact time (left figure) and sampling point (right figure) on the survival (percent) of earthworms in contaminated soil after 42 day.

وزن کرم‌های خاکی: نتایج تجزیه واریانس اثر زمان و نقاط نمونه‌برداری بر وزن کرم‌های خاکی نشان داد که اثر زمان و نقاط آلوده به‌جز برهمکنش آن‌ها بر وزن کرم‌های خاکی معنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد (شکل ۳) که با گذشت زمان میانگین وزن کرم‌های خاکی در خاک‌های آلوده به کادمیوم و سرب به‌گونه معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که تا روز ۱٤ آزمایش وزن کرم‌ها افزایش یافته بود که این می‌تواند به‌دلیل استفاده از منبع غذا باشد (۳۷) و از روز ۱٤ به بعد با گذشت زمان و کاهش منبع غذایی، کاهش وزن کرم خاکی مشاهده شد. با توجه به شکل ۳ (شکل سمت راست)، تفاوت آماری معنی‌داری بین وزن کرم خاکی در خاک‌های نقاط $S_{۱}$، $S_{۵}$ دیده نشد اما بین این نقاط با سایر نقاط

مورد بررسی ($S_{۲}$، $S_{۳}$، $S_{٤}$، $S_{٦}$، $S_{۷}$)، از نظر آماری تفاوت معنی‌دار شد، به‌طوری‌که این نقاط ($S_{۱}$، $S_{٥}$) بیش‌ترین وزن کرم خاکی را به خود اختصاص دادند. اسپورگئون و همکاران (۱۹۹٤)، نیز اثر کادمیوم، مس، سرب و روی را بر وزن کرم خاکی ایزنیا فتیدا بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که وزن کرم‌هایی که در تیمار شاهد و غلظت‌های پایین فلزات قرار گرفته بودند پس از گذشت یک هفته افزایش کمی داشت. اما در هفته‌های بعدی وزن کرم‌ها کاهش یافت به‌طوری‌که بعد از ٥٦ روز، تفاوت معنی‌داری در وزن کرم‌ها بین تیمارها با شاهد وجود نداشت (۳۷).



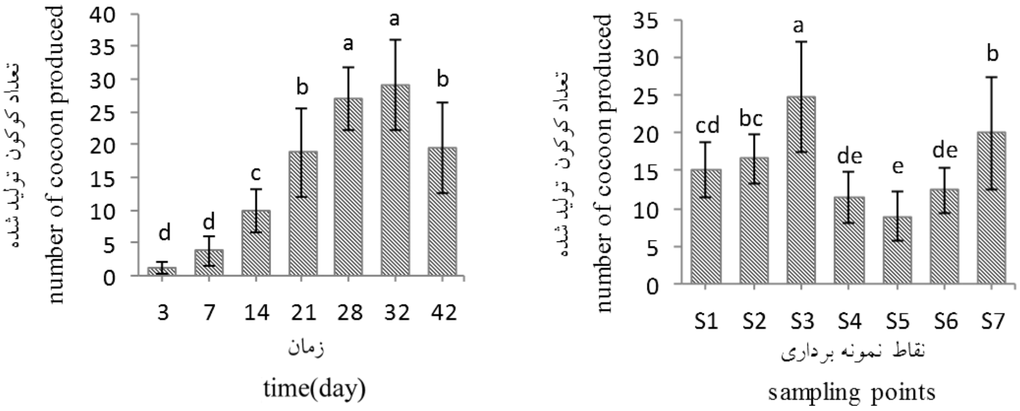
شکل ۳- اثر زمان تماس (شکل سمت چپ) و نقاط نمونه‌برداری (شکل سمت راست) بر وزن کرم‌های خاکی در خاک آلوده پس از ٤۲ روز.

Figure 3. The effect of contact time (left figure) and sampling point (right figure) on the weight of earthworms in contaminated soil after 42 day.

بنابراین در این مطالعه کاهش وزن بدن در خاک شاهد به احتمال زیاد به این دلیل است که هیچ مواد غذایی در طول مدت آزمایش اضافه نشد و کربن آلی موجود در این خاک برای حفظ وزن اولیه بدن کرم‌های خاکی کافی نبود این نتایج با گزارش‌های هلینگ و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت داشت (۱۰).

فراوانی کوکون تولید شده از کرم خاکی: نتایج تجزیه واریانس اثر زمان و نقاط نمونه‌برداری بر فراوانی کوکون تولید شده کرم‌های خاکی نشان داد که اثر زمان و نقاط آلوده و همچنین برهم‌کنش آن‌ها بر فراوانی کوکون تولید شده کرم‌های خاکی معنی‌دار بود (جدول ٥). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد (شکل ٤) که تولید کوکون تا روز ۳۲ آزمایش به‌طور معنی‌داری افزایش یافت احتمالاً دلیل آن می‌تواند خو گرفتن کرم خاکی با گذر زمان در بستر جدید باشد. بیش‌ترین میزان کوکون تولید شده در روز ۲۸ و ۳۲ آزمایش با اختلاف معنی‌دار بین روزهای دیگر دیده شد. کم‌ترین میزان کوکون تولید شده با اختلاف معنی‌دار در روز ٤۲ دیده شد که احتمالاً به‌دلیل کامل شدن سیکل کوکون‌ها و تبدیل کوکون به لاورها باشد (شکل ٤، سمت چپ). در بین نقاط آلوده، نقطه $S_{۳}$ بیش‌ترین تعداد کوکون را به خود اختصاص داد و تفاوت معنی‌داری بین این نقطه با نقطه غیرآلوده ($S_{۷}$) یافت شد. کم‌ترین تعداد کوکون در نقطه $S_{٥}$ یافت شد که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر نقاط داشت (شکل ٤، سمت راست). در دسترس

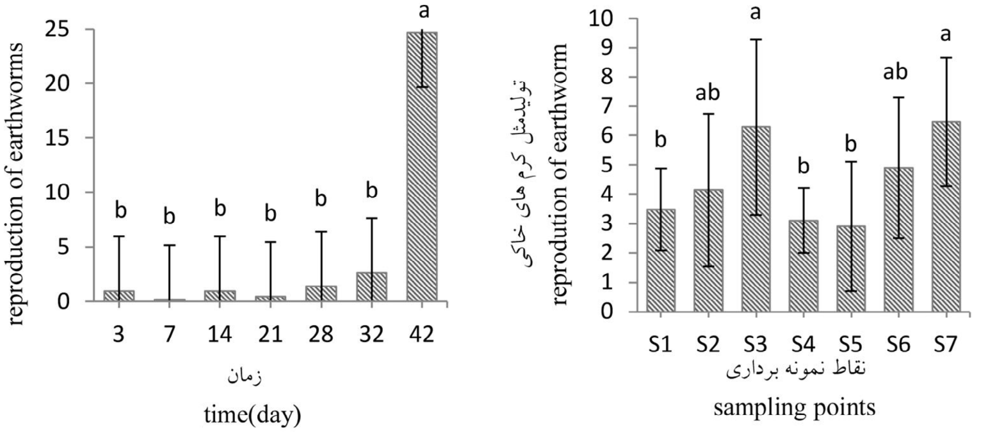
بودن مواد غذایی کافی و قابل‌دسترس بودن فلزات سرب و کادمیوم برای حفظ تولید کوکون اهمیت دارد (۲۶). اختلاف در تولید کوکون در نقطه $S_۳$ و $S_۷$ را می‌توان به مقدار کربن آلی در این نقاط نسبت داد که کربن آلی در نقطه $S_۳$ بیش‌تر از نقطه $S_۷$ بود. به عقیده مورگان و مورگان (۱۹۹۳)، مقاومت بالای کرم‌های خاکی به اثرات سمی کادمیوم و سرب احتمالاً می‌تواند به‌دلیل سم‌زدایی آن توسط پروتئین‌های متالوتیونین در کانال‌های غذایی پشتی باشد (۱۸). این در حالی است که تعداد کوکون در نقطه نمونه‌برداری $S_۳$ این پژوهش نیز بالا بود.



شکل ٤- اثر زمان تماس (شکل سمت چپ) و نقاط نمونه‌برداری (شکل سمت راست) بر تعداد کوکون تولید شده کرم‌های خاکی در خاک آلوده پس از ٤۲ روز.

Figure 4. The effect of contact time (left figure) and sampling point (right figure) on the number of cocoon produced by earthworms in contaminated soil after 42 day.

تولیدمثل (تعداد لارو) کرم خاکی: نتایج تجزیه واریانس اثر زمان و نقاط نمونه‌برداری بر تولیدمثل کرم‌های خاکی نشان داد که اثر زمان و نقاط آلوده و همچنین برهم‌کنش آن‌ها معنی‌دار بود (جدول ۵). تعداد لارو کرم‌های خاکی (تولیدمثل) در طول زمان افزایش یافت به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری در روز ٤۲ آزمایش با سایر روزها دیده شد احتمالاً دلیل آن می‌تواند خو گرفتن کرم‌خاکی در گذر زمان در بستر جدید باشد (شکل ۵). همچنین بیش‌ترین تولیدمثل در نقاط $S_۳$، $S_۷$ (نقطه غیرآلوده) دیده شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها دیده نشد و کم‌ترین تعداد تولیدمثل در نقاط $S_۱$، $S_۲$ و $S_۵$ یافت شده که بین این نقاط هم تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد. از آن‌جایی‌که نقطه $S_۳$ یکی از آلوده‌ترین نقاط به فلزات سرب و کادمیوم بود بیش‌ترین تعداد کرم خاکی را به خود اختصاص داد. کربن آلی بالا و بافت مناسب (لوم رسی) به‌نظر می‌رسد که اثر برتری بر طبقه‌بندی این نقطه به‌عنوان نقطه مقاوم نسبت به سایر نقاط آلوده داشته است (شکل ۵).



شکل ۵- اثر زمان تماس (شکل سمت چپ) و نقاط نمونه‌برداری (شکل سمت راست) بر تولیدمثل کرم‌های خاکی در خاک آلوده پس از ۴۲ روز.

Figure 5. The effect of contact time (left figure) and sampling point (right figure) on the production of earthworms in contaminated soil after 42 day.

نتیجه‌گیری

خاک‌های آلوده به سرب و کادمیوم تا حدودی می‌تواند پارامترهای رشد کرم‌های خاکی گونه *E. foetida* را تحت‌تأثیر قرار دهد. معمولاً هرچه کرم‌های خاکی مدت زمان طولانی‌تری در تماس با این عناصر قرار گرفتند، کاهش جمعیت، وزن و تولید کوکون آن ها شدیدتر بود. اما زمانی که کرم‌های خاکی در معرض خاک‌های آلوده به فلزات سنگین مانند سرب و کادمیوم قرار بگیرند، کاهش جمعیت، وزن و تعداد کوکون تولیدی، از سرعت کم‌تری برخوردار گردید به‌طوری‌که افزایش تعداد کوکون و تولیدمثل در پایان دوره آزمایش رخ داد. با وجود بالا بودن غلظت عناصر سرب و کادمیوم در نقطه S۳ بیش‌ترین درصد زنده‌مانی، تعداد کوکون و لارو (تولیدمثل) کرم‌های خاکی دیده شد که دلیل آن می‌تواند مقاومت بالای کرم‌های خاکی به اثرات سمی کادمیوم و سرب به‌دلیل سم‌زدایی آن توسط پروتئین‌های متالوتیونین در کانال‌های غذایی پشتی باشد. استفاده از مواد آلی از شدت تأثیر سرب و کادمیوم بر کرم‌های خاکی کاست و اثر سوء آن را کاهش داد ولی روش این عمل به خوبی مشخص نیست و لازم است در پژوهش‌های بعدی مشخص گردد. نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که صفات رشدی کرم‌های خاکی زنده‌مانی، وزن و تولید کوکون برای شناسایی و ارزیابی آلودگی خاک به فلزات سنگین سودمند هستند و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان شاخص آلودگی خاک استفاده نمود.

منابع

1. Allen, H.E. 1997. Standards for metal should not be based on total concentrations. SETAC-Europe news, 8: 7-9.
2. Arnold, R., and Hodson, M. 2007. Effect of time and mode of depuration on tissue copper concentrations of the earthworms *Eisenia andrei, Lumbricus rubellus* and *Lumbricus terrestris.* Environmental Pollution. 148: 21-30.
3. Asensio, V., Rodrı´guez-Ruiz, A., Garmendia, L., Andre, J., Kille, P., Morgan, A.J. et al. 2013 Towards an integrative soil health assessment strategy: a three tier (integrative biomarker response) approach with *Eisenia foetida* applied to soils subjected to chronic metal pollution. Science of The Total Environ. 442: 344-365.

4.Bauycos, G.J. 1962. Hydrometer methods improved for making particle size of soils. Agron. J. 56: 464-465.

5.Duarte, A.P., Melo, V.F., Brown, G.G., and Pauletti, V. 2012. Changes in the forms of lead and manganese in soils by passage through the gut of the tropical endogeic earthworm (*Pontoscolex corethrurus*). Eur. J. Soil Biol. 53: 32-39.

6.Edwards, C.A., and Bohlen P.J. 1996. Biology and Ecology of Earthworms. 3rd. Chapman & Hall, London. 7- EPA. 1996. Ecological Effects Test Guide lines. Earthworm subchronic toxicity test. United States Environmental Protection Agency.

7.EPA. 1996. Ecological Effects Test Guide lines. Earthworm subchronic toxicity test. United States Environmental Protection Agency.

8.Haghparast, R.J., Golchin, A., and Kohne, A. 2013. Study of the effect of different cadmium concentrations on the growth of earthworm of the *Eisenia foetida* species in a calcareous soil. J. Water Soil. 27: 1. 24-35. (In Persian)

9.Helling, B., Reinecke, S.A., and Reinecke, A.J. 2000. Effects of fungicide copper oxychloride on the growth and reproduction of *Eisenia foetida* (Oligochaeta). Ecotoxicology and Environmental Safety, 46: 108-116.

10.Hinton, J., and Veiga, M.M. 2008. The influence of organic acids on mercury bioavailability: insight from an earthworm assessment protocol. Environ Bioindic 3: 47-67.

11.Homa, J., Niklinska, M., and Plytycz, B. 2003. Effect of heavy metals on coelomocytes of the earthworm *Allolobophora chlorotica*. Pedobiologia, 47: 640-645.

12.Hopkin, S.P. 1989. Ecophysiology of metals in invertebrates. Elsevier Applied Science, London.

13.Jamshidi, Z, and Golchin A. 2013. The effect of different levels of chromium and exposure time on growth parameters of earthworms. KAUMS J. (FEYZ). 16: 7. 625-26.

14.Lee, S.W., Lee, B.T., Kim, J.-Y., Kim, K.-W., and Lee, J.-S. 2006. Human risk assessment for heavy metals and as contamination in the abandoned metal mine areas, Korea. Environmental monitoring and assessment 119: 233-244.

15.Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T.J., Yuan, Z., and Huang, L. 2014. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: pollution and health risk assessment. Science of the total environment, 468: 843-853.

16.Li, L., Xu, Z., Wu, J., and Tian, G. 2010. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia foetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. Bioresource Technology. 101: 10. 3430-36.

17.Morgan, A.J., and Morris B. 1982. The accumulation and intracellular compartementation of cadmium, lead, zinc and calcium in two earthworm species (*Dendrobaena rubida* and *Lumbricus rubellus*) living in highly contaminated soil. Histochemistry, 75: 269-285.

18.Morgan, J.E., and Morgan A.J. 1993. Seasonal changes in the tissue metal (Cd, Zn and Pb) concentrations in two ecophysiologically dissimilar earthworm species- pollution monitoring implications. Environmental Pollution, 82: 1-7.

19.Nahmani, J., Hodson, M.E., Devin, S., and Vijver, M.G. 2009. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia foetida* exposed to field-contaminated soils. Environmental Pollution. 157: 10. 2622-28.

20.Nahmani, J., Hodson, M.E., and Black, S. 2007. Effects of metals on life cycle parameters of the earthworm *Eisenia foetida* exposed to field-contaminated, metal-polluted soils. Environmental Pollution, 149: 44-48.

21.Nannoni, F., Protano, G., and Riccobono, F. 2011. Fractionation and geochemical mobility of heavy elements in soils of a mining area in northern Kosovo. Geoderma. 161: 63-73.

22.OECD. 1984. Guideline for the testing of chemicals no. 207. Earthworm, acute toxicity tests. OECD-guideline for testing chemicals. Paris, France.

23.Prinsloo, M.W., Reinecke, S.A., Przybylowicz, W.J., Mesjasz-Przybylowicz, J., and Reinecke A.J. 1999. Micro-PIXE studies of Cd distribution in the nephridia of the earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). Nucl. Instrum. Methods B. 158: 317-322.

24.Reinecke, A.J., and Reinecke, S.A. 2004. Earthworms as test organisms in Ecotoxicological assessment of toxicant impacts on ecosystems. In: Edwards, C.A. (ed) Earthworm ecology. CRC, BocaRaton, FL, Pp: 299-320.

25.Reinecke, A.J., and Reinecke, S.A. 1996. The influence of heavy metals on the growth and reproduction of the compost worm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). Pedobiologia, 40: 439-448.

26.Reinecke, A.J., and Viljoen, S.A. 1990. The influence of feeding patterns on growth and reproduction of the vermicompositing earthworm *Eisenia foetida* (Oligochaeta). Biology and Fertility of Soils, 10: 3. 184-187.

27.Reinecke, A.J. 1992. A review of ecotoxicological test methods using earthworms. In: Greig-Smith, P.W., Becker, H., Edwards, P.J., Heimbach, F. (Eds.), Ecotoxicology of Earthworms. Intercept, Hants, Pp: 7-19.

28.Renella, G., Mench, M., Land, L., and Nannipieri, P. 2005. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. Soil Biology and Biochemistry, 37: 133-139.

29.Rodrı´guez-Ruiz, A 2010. Risk assessment in real soils from the Basque Country after soil health screening trough toxicity profiles based on standard and novel multiple endpoint bioassays. Dissertation, University of the Basque Country, Basque Country, Spain.

30.Roades, J.D. 1996. Salinity: electrical conductivity and and total dissolved solids. Method of soil analysis, parss: chemical methods. Madison. Wisconsin, USA. Pp: 417-436.

31.Rowell, D.L. 1994. soil science methods and Application, part7. Measurement of the composition of soil solution. 146p.

32.Schreck, E., Geret, F., Gontier, L., and Treilhou, M. 2008. Neurotoxic effect and metabolic responses induced by a mixture of six pesticides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* nocturna. Chemosphere. 71: 10. 1832-39.

33.Siekierska, E., and Urbanska-Jasik, D. 2002. Cadmium effect on the ovarian structure in earthworm *Dendrobaena veneta* (Rosa). Environmental Pollution, 120: 289-297.

34.Sizmur, T., and Hodson, M.E. 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil?–A review. Environmental Pollution. 157: 7. 1981-89.

35.Sposito, G., Lund, L.J., and Chang, A.C. 1982. Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: i. fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am. 46: 260-264.

36.Spurgeon, D.J., and Hopkin, S.P. 1995. Extrapolation of the laboratory-based OECD earthworm toxicity test to metal-contaminated field sites. Ecotoxicology, 4: 190-205.

37.Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P., and Jones, D.T. 1994. Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia foetida* (Savigny): Assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial eco-systems. Environmental Pollution, 84: 123-130.

38.Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity in methods of soil analysis. Klute, A. (ed). Part 3. Chemical methods. Madison, wisconsen, USA. Pp: 475-490.

39.Walkey, A., and Black, I.A. 1934. An Examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.

40.Zaltauskaite, J., and Sodiene, I. 2010. Effects of total cadmium and lead concentrations in soil on the growth, reproduction and survival of earthworm *Eisenia foetida*. Ekologija. 56: 1-2. 10-16.

Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Water and Soil Conservation, Vol. 25(6), 2019
http://jwsc.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jwsc.2018.14918.3000

The effect of contact time on the growth traits of earthworm *Eisenia foetida* fed livestock manure in contaminated soil

***Gh. Rahimi[1] and F. Nouroozi Goldareh[2]**
[1]Associate Prof., Dept. of Soil Science, Bu-Ali Sina University,
[2]M.Sc. Graduate, Dept. of Soil Science Bu-Ali Sina University
Received: 04.14.2018; Accepted: 09.25.2018

Abstract

Background and Objectives: Soil pollution by heavy metals in the world, especially in countries that require soil to produce food, has become a serious concern. In the context of environmental risk assessment, earthworms are an important component of soil and ecologically considered as a biochemical indicator (bio Index) for soil health and quality. Earthworms are part of the food chain and the soil decomposition cycle, whose growth characteristics i negatively affected by soil contamination. Due to the sensitivity of dirt worms to contamination, they can be used as an indicator of contaminated soil. This study was carried out in order to investigate the effect of contact time and soil sampling location on the growth traits of earthworms in contaminated soils.

Materials and Methods: The study was conducted on a contaminated soil that was sampled from the Ahangaran mine and its surrounding land, located at the 26 kilometer far from Malayer to Arak, in the Hamedan province, which lies between longitudes and latitudes 44° 59' 44" and 34° 10' 20", respectively. A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Animal fertilizers were used as nutrition for soil worms. In this experiment, 12 earthworms with an average weight of 0.3-0.6 mg were selected for each soil sample and during the experiment, no food was added to the dishes. Then, the worms were exposed to soil contamination in seven different time intervals of 3, 7, 14, 21, 28, 32 and 42 days. The viability, weight, cocoon production and reproduction were investigated by hand counting in unit of the substrate weight.

Results: The results of analysis of variance showed that lead and cadmium contaminated soils can somewhat affect growth parameters of *Eisenia foetida*. The number of earthworms decreased with time, so that on the 3rd and 7th days, the highest percentage of earthworms (94.52%) and the lowest percentage (73.180%) of earthworms were observed on day 42 with significant difference, which could be due to depletion of food source for earthworms over time. The highest amount of cocoon produced in days 28 and 32 was observed with significant difference when compared with other days. The significantly lowest amount of cocoon produced was observed on day 42, probably due to the completion of the cocoon cycle and the conversion of the cocoon to the lavar. Despite the high concentrations of lead and cadmium in point S_3, the highest percentage of survival, number of cocoons and larvae (reproduction) of earthworms was observed, which could be due to the high resistance of earthworms to the toxic effects of cadmium and lead because of its detoxification by metallothionein proteins in dorsal canals.

---

* Corresponding Author; Email: ghasemr@gmil.com

Conclusion: Generally, the decline in population, weight and cocoon production were more pronounced along with increase of the earthworms exposure time. However, when earthworms were fed to heavy metals such as lead and cadmium with animal fertilizer, population decline, weight and number of produced cocoons were less, so increased cocoons number and reproduction were occurred at the end of the trial. Due to the sensitivity of growth traits of earthworms, they can be used as indicators of soil contamination.

Keywords: Cocoon, *Eisenia foetida* earthworm, Lead and cadmium, Soil contamination, Viability